

免疫沉淀 (IP) 试验中 Western blotting (WB) 检测时二抗选择指南

IP 捕获抗体类型	WB 检测时一抗类型	WB 检测时二抗类型	备注说明
小鼠单抗/多抗	小鼠单抗	HRP-标记 Pro A 二抗	1、WB 检测时一般的 HRP-标记抗小鼠 IgG 二抗可产生严重的重链轻链干扰信号； 2、HRP-标记 ProA 二抗可以有效降低重链信号强度，消除轻链信号； 3、WB 一抗若为 mouse IgG1/IgG3 亚型，HRP-标记 Pro A 二抗亲和力较低，可适当降低其稀释度(HRP-标记抗小鼠 IgG 二抗作备选)。 4、WB 一抗若为小鼠 Ig M 亚型，则避免选择 HRP-标记 Pro A 二抗，因其亲和力低。
	小鼠多抗		
	兔多抗	HRP-标记抗兔 IgG 二抗	
兔多抗	小鼠单抗	HRP-标记抗小鼠 IgG 二抗	由于 IP 捕获抗体与 WB 检测一抗属于不同种属来源抗体，故 WB 检测时使用 HRP-标记抗小鼠 IgG 二抗可以有效避免重链轻链信号的影响。
	小鼠多抗		
	兔多抗	1、HRP-标记 Pro A 2、HRP-标记抗兔 IgG 轻链特异性抗体 *依据视目的蛋白大小选择	1、WB 检测时 HRP-标记抗兔 IgG 二抗会产生很强的重链轻链信号，以及背景信号，对结果分析有一定影响； 2、HRP-标记 ProA 二抗可以有效降低重链信号以及消除轻链信号的影响，背景干净，适用于检测目的蛋白大小除 45-55 kDa 之外的所有目的蛋白。而目的蛋白大小在 45-55 kDa 之间时，推荐使用 HRP-标记抗兔 IgG 轻链特异性二抗。